

盘状结构域受体 1 (DDR1) 激酶抑制剂的研究进展

葛天鹏^{†,a,b} 杨彦辰^{†,b,c} 李淳朴^b 张剑^{*,a} 柳红^{*,a,b}^(a) 潍坊医学院药学院 潍坊 261053^(b) 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室 上海 201203^(c) 中国药科大学药学院 南京 211198

摘要 盘状结构域受体 1 (discoidin domain receptor 1, DDR1) 是一种胶原激活的受体酪氨酸激酶, 在调节细胞分化、增殖、粘附、迁移、侵袭和基质重塑等重要过程中发挥关键作用。DDR1 的过度表达或激活与炎症发生、发展以及肿瘤侵袭、转移等过程密切相关, 因此 DDR1 是治疗炎症、纤维化和恶性肿瘤等疾病的潜在靶标。自 20 世纪 90 年代初, 多种 DDR1 小分子抑制剂相继被报道, 重点介绍了 DDR1 的结构功能、作用机制和信号通路, 从药物化学的角度总结 DDR1 小分子抑制剂的设计方法、构效关系和药理活性。

关键词 盘状结构域受体 1 (DDR1); 抑制剂; 胶原

Research Progress of Discoid Domain Receptor 1 (DDR1) Inhibitors

Ge, Tianpeng^{†,a,b} Yang, Yanchen^{†,b,c} Li, Chunpu^b Zhang, Jian^{*,a} Liu, Hong^{*,a,b}^(a) School of Pharmacy, Weifang Medical University, Weifang 261053^(b) State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203^(c) School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198

Abstract Discoid domain receptor 1 (DDR1) is a collagen-activated receptor tyrosine kinase that plays a key role in regulating important processes, such as cell differentiation, proliferation, adhesion, migration, invasion and matrix remodeling. Overexpression or activation of DDR1 is closely related to the occurrence and development of inflammation, as well as tumor invasion and metastasis. Therefore, DDR1 is a potential target for the treatment of diseases, such as inflammation, fibrosis and malignancy. Since the early 1990s, a variety of DDR1 small molecule inhibitors have been reported successively. This article focuses on the structure, function, mechanism and signaling pathways of DDR1, and the design, structure-activity relationship and pharmacological activity of DDR1 small molecule inhibitors from the perspective of medicinal chemistry are reviewed.

Keywords discoid domain receptor 1 (DDR1); inhibitor; collagen

1 DDR1 背景简介

盘状结构域受体(discoidin domain receptors, DDRs)是 20 世纪 90 年代初发现的跨膜受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTKs)超家族的成员, 与其他 RTKs 在结构上的区别在于, 胞外区存在盘状蛋白基序, 是一种新型胶原激活的 RTK。DDRs 家族包括 DDR1 和 DDR2 两个亚型, DDR1 (DDR1a, DDR1b, DDR1c, DDR1d 和 DDR1e)的五种剪切异构体在糖基化程度、蛋白质

相互作用、表达模式、磷酸化及活性均有不同, 而 DDR2 只有一种结构^[1]。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在维持组织的各种物理化学、结构和生理特性方面起着重要作用, 其失调可能导致异常的细胞行为, 促进恶性肿瘤形成。三螺旋胶原是 ECM 中含量最丰富的成分, 常见的 RTKs 一般以肽样生长因子作为配体, 而 DDRs 则被各种类型的三螺旋胶原激活。研究表明 DDR1 和 DDR2 具有特异性配体, DDR1 可与各类胶原蛋白相结

* Corresponding authors. E-mail: hliu@simm.ac.cn; zhangjian_3323@163.com

Received April 8, 2022; revised May 19, 2022; published online June 8, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81620108027, 21632008, 21907102, 82103969, 81903434) and the National Key R & D Program of China (No. 2020YFC0841400).

国家自然科学基金(Nos. 81620108027, 21632008, 21907102, 82103969, 81903434)、国家重点研发计划(No. 2020YFC0841400)资助项目。

[†] 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

合, DDR2 仅与纤维型(I, II, III)及非纤维型(X)胶原蛋白相结合. 当胶原蛋白处于天然三螺旋形式时可以激活 DDRs, 而缺乏三螺旋结构的热变性胶原蛋白无法诱导激酶活性. 在组织分布方面, DDR1 主要在大脑、肾、结肠和肺的上皮细胞中表达, DDR2 在间充质细胞, 包括成纤维细胞、肌成纤维细胞、平滑肌细胞以及心脏、皮肤、肺、肾脏和结缔组织的软骨细胞中表达^[2]. DDR1 活化的方式较为独特, 一般 RTKs 表现为快速激活和失活, 而 DDR1 表现为缓慢激活和失活, 其磷酸化时间较长. 在胶原配体刺激下, DDR1 经历 30 min 左右才能被磷酸化, 持续时间可长达 16 h^[3]. 值得注意的是, 与大多数 RTKs 的配体诱导二聚化不同, 在与胶原蛋白结合前, DDRs 已经发生二聚化, 而在与胶原结合后, 随着信号传导至激酶结构域, 该区域发生自身磷酸化, 从而引起下游相关信号通路的激活^[4]. DDR1 已被证明可调节多种细胞信号通路, 在调节细胞分化、增殖、粘附、迁移、侵袭和基质重塑等重要过程中起着关键作用, 然而这种细胞外胶原结合和激活受体胞浆激酶结构域的机制尚未阐明. 与其他 RTKs 类似, DDR1 失调可导致炎症、神经退行性疾病、纤维化疾病、动脉粥样硬化和癌症等多种疾病^[5].

2 DDR1 的结构和下游信号通路

DDR 是 RTKs 超家族的成员, 在结构上与经典的 RTKs 高度相似, 因其在胞外区的盘状结构域而区别于其他的酪氨酸激酶(图 1). 具体存在六个不同的蛋白质结构域: 盘状结构域(discoidin domain, DS)、类盘状结构域(DS-like)、胞外近膜区(extracellular juxtamembrane region, EJXM)、跨膜结构域(transmembrane domain, TM)、胞内近膜区(intracellular juxtamembrane region, IJXM)和激酶结构域(kinase domain, KD)^[6]. 胞外结构域包括与多种胶原结合的 DS 和 DS-like, 以及位于 DS-like 下方的 EJXM, 在 DDR1 中 EJXM 含有约 50 个氨基酸, 在 DDR2 中 EJXM 含有 30 个氨基酸. TM 为细胞外和细胞内结构域之间提供连接, 该区域对 DDRs 激酶的自身二聚化至关重要^[7]. 胞内结构域包括 IJXM 和 KD, IJXM 是一个较大的结构域, 在 DDR1 中 IJXM 含有约 171 个氨基酸, 在 DDR2 中 IJXM 含有约 142 个氨基酸^[8]. 当 DS 与胶原结合后, IJXM 中的酪氨酸残基被磷酸化, 作为对接位点吸引附近的衔接蛋白. KD 包含 300 多个氨基酸, 并且 DDR1 和 DDR2 在 KD 末端分别拥有约 8 个和 6 个氨基酸残基的短尾^[9]. 与大多数激酶类似, DDRs 的内在酶活性由其 KD 决定. DDRs 的 KD 与 Abl 或 c-Kit 具有高度的序列和形态同源性. 已报道的 DDR1 KD 与小分子抑制剂共晶结构表明 DDR1 KD 包含与其他

RTKs 中类似的环或基序, 主要包括铰链区、催化环和活化环. DDR1 基因外显子的不同剪切方式, 形成了 DDR1 蛋白的 5 个异构体: DDR1a、DDR1b、DDR1c、DDR1d 和 DDR1e, 其中 DDR1a、DDR1b 和 DDR1c 是含有 KD 的具有激酶活性的全长功能性受体, 而 DDR1d 和 DDR1e 由于结构域不完整或不具有激酶活性, 属于非功能性受体^[10]. DDR1a 包含 876 个氨基酸, DDR1b 包含 913 个氨基酸, 具有 919 个氨基酸的 DDR1c 是这些异构体中最长的^[11]. 与 DDR1a 相比, DDR1b 和 DDR1c 在 IJXM 内多出的 37 个氨基酸序列中包括对 DDR1 信号传导很重要的酪氨酸残基 Tyr513. DDR1d 仅含有 508 个氨基酸, 突变原因可能是由于外显子 11 和 12 的缺失导致终止密码子产生使转录提前终止. DDR1e 包含 767 个残基, 虽然 DDR1e 含有 KD 部分, 但缺乏 ATP 结合位点, 因此不会发生自身磷酸化, 这也使得 DDR1e 成为一种非活性受体^[10]. DDR2 只有一个亚型, 由 855 个氨基酸构成, 且具有激酶活性. DDRs 都需要与不同类型的胶原结合开启下游通路, 值得注意的是, 只有活性胶原, 即三螺旋胶原可与 DDRs 结合, 而热变性胶原(如: 明胶等)是不能被 DDRs 识别或结合的^[12]. 脊椎动物中有 28 种不同的胶原蛋白类型, 分别用罗马数字 I~XXVIII 命名, 可分为两大类: 纤维型和非纤维型. 纤维型胶原主要由 I 型、II 型、III 型、V 型、XI 型、XXIV 型和 XXVII 型构成, 而其余的则属于非纤维型胶原范畴. DDRs 都与具有某些配体特异性的纤维状胶原蛋白结合, DDR1 优先结合胶原蛋白 I~V 和 VIII, 而 DDR2 结合胶原蛋白 I~III、V 和 X^[13]. 此外, DDR1 还能够结合 ECM 中的另一种成分骨膜素^[14].

当 DDRs 与胶原蛋白结合后激活下游信号通路, 由 DDRs 激活的信号通路目前仍没有完整的认识. 在人乳腺和结肠的癌细胞株中, 在 p53 诱导下 DDR1 可以激活 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路, 导致抗凋亡蛋白 Bcl-x1 的表达上调, 提高细胞在基因毒性应激条件下的存活率^[15]. 在人乳腺癌细胞中, DDR1 的激活也可以增加 NF- κ B DNA 的结合活性和环氧合酶-2 (COX-2) 的表达, 进而导致化疗耐药性的加强^[16]. DDR1 还可以与 Notch1 形成复合物, 在结肠癌细胞中, DDR1 激活会诱导 γ 分泌酶裂解 Notch1, 产生的 Notch1 胞内结构域会转移至细胞核, 使得促生存基因 Hes1 和 Hey2 表达上调^[17]. 在 NIH3T3 成纤维细胞和 MCF7 乳腺癌细胞中, DDR1 通过与 NMHC-IIA(参与细胞扩散的收缩蛋白)相互作用抑制细胞扩散^[18]. 在口腔鳞癌细胞中, E-钙黏素进入细胞间隙后, DDR1 与 Par3/Par6 蛋白结合形成复合物, 该复合物通过 RhoE 募集, 在细胞连接处消除 RhoA/ROCK 活性和降低肌动球蛋白水平, 从而增加口腔鳞癌细胞的侵

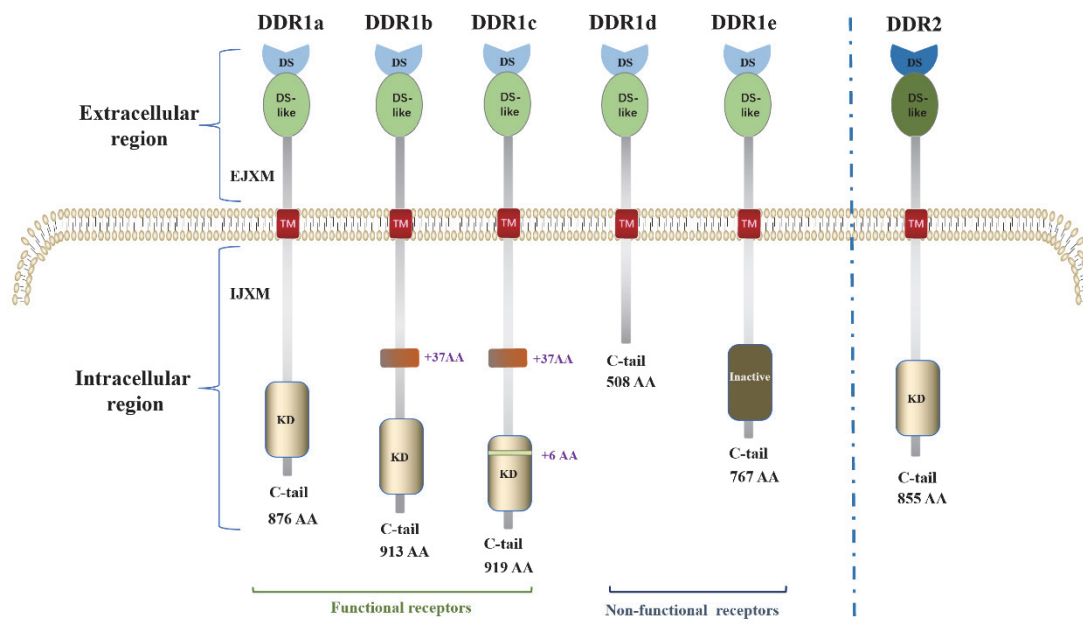


图1 DDRs 结构域示意图
Figure 1 Domain structure of DDRs

袭性^[19]. 在非恶性乳腺癌上皮细胞中, Wnt-5a 可能通过激活 DDR1 抑制迁移^[20], 在乳腺癌细胞系 MCF7 和 MDA-MB-231 中, DDR1 只有在与磷酸化蛋白 DARPP32 共同表达时才明显抑制迁移^[21]. 胶原还可以与整合素结合激活某些信号通路, 与 DDR1 激活在各种下游信号级联中表现出协同作用. 在胰腺癌细胞系中, DDR1 与整合素 $\beta 1$ 同时被激活, 启动下游 FAK/p130CAS/JNK 通路, 上调 N-钙黏素表达, 导致细胞分散或上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[22]. 关于肿瘤细胞中的 DDR2 信号传导通路目前仍然知之甚少, Payne 等^[23]在 2014 年描述了可能的 DDR2 信号通路. DDR2 激活重要的信号成分, 包括 ShcA、JAK、ERK1/2 和 PI3K, 通路途径类似于 DDR1^[23]. DDR2 有时表现出其他细胞表面受体(其他 RTKs 和整合素受体)之间的串扰, 导致下游信号的多样化^[24]. 在 I 型胶原诱导的 DDR2 信号的磷酸化蛋白质组学筛选中, 已鉴定出 45 种下游信号效应器, 这些信号因子包括新的蛋白质底物, 如 Lyn、SHIP-2 和 PLCL2 等. 进一步实验表明, 这些信号通路独立于胶原激活整合素的信号通路, 并且对 DDR2 途径具有特异性^[25]. DDRs 的下游信号通路如图 2 所示.

3 DDR1 在相关疾病中的表达

DDR1 受体表达失调与多种人类疾病密切相关, 包括炎症(肝炎、骨膜炎、肾炎)、癌症(胶质瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌和乳腺癌等)、纤维化疾病(肝纤维化、肾纤维化和肺纤维化).

3.1 DDR1 在炎症相关疾病发生发展中的作用

在诱导的小鼠肾小球肾炎模型中, 检测到 DDR1 蛋白的异常表达. 与正常肾脏组织不同, Kerroch 等^[26]在小鼠肾小球肾炎模型中发现, DDR1 主要表达部位由血管壁转变为肾小球, 当给予针对 DDR1 的反义寡核苷酸治疗后, 肾小球组织中的 DDR1 蛋白表达减少, 体重增加, 蛋白尿及血尿素氮明显降低. 抑制 DDR1 的表达可以减轻小鼠肾小球硬化和肾间质纤维化, 还可以减少组织炎症细胞的浸润, 从而缓解小鼠的肾脏炎症^[26].

在病毒性肝炎的肝损伤模型中, 可以检测到 DDR1 的高表达. 与非病变肝脏相比, 肝硬化患者的 DDR1 蛋白表达更丰富. 在 Huh7 细胞系中, DDR1a 的过度表达增加了对 I 型胶原的特异性粘附, 并降低了 ECM 上的流动性. 在肝硬化过程中存在的体内炎症反应中能观察到渗出的中性粒细胞, 中性粒细胞可以表达 DDR1, 而在促进中性粒细胞迁移方面, DDR1 有着重要作用^[27].

动脉粥样硬化是一种渐进性病理过程, 是导致脑卒中、外周动脉疾病和心肌梗死等心脑血管疾病的常见诱因, 血管壁的慢性炎症反应可引起动脉粥样硬化并主导其发生和发展. 在参与动脉粥样硬化斑块的相关细胞系(T 淋巴细胞、巨噬细胞和血管平滑肌细胞)中可检测到 DDR1, DDR1 可能参与动脉粥样硬化的发生和发展^[28]. Kamohara 等^[29]发现, 在分离的外周血中单个核细胞和中性粒细胞中 DDR1 mRNA 的表达水平轻度升高, 而没有发现 DDR1 蛋白的表达; 但在由粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating

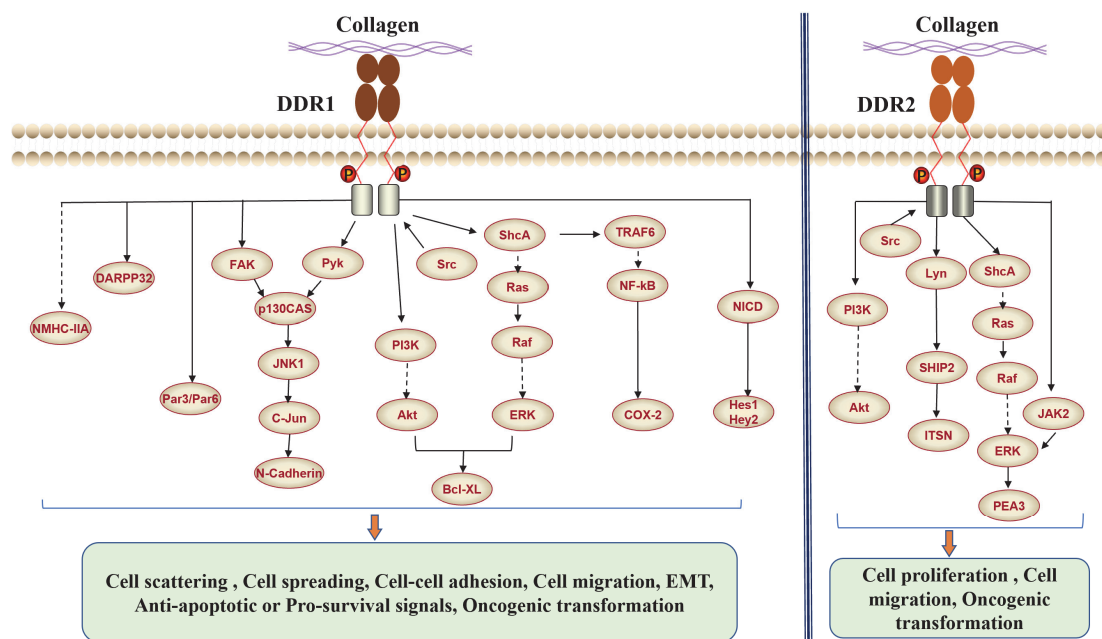


图2 DDRs 信号通路示意图
Figure 2 Schematic representation of DDRs pathways

factor, GM-CSF)、IL-1 β 、 γ 干扰素和 TNF- α 刺激的单核细胞和中性粒细胞中却检测到 DDR1 蛋白有明显的上调。同样,在未经活化的人体 T 淋巴细胞中,DDR1 mRNA 的表达维持在较低的水平,而在抗 CD3 单克隆抗体激活的 T 淋巴细胞中可以检测到 DDR1 蛋白的表达明显增加。通过给予灵长类动物高胆固醇饮食,检测到动脉粥样硬化斑块的巨噬细胞也上调 DDR1 的表达水平,证实了 DDR1 参与了动脉粥样硬化的炎症反应^[30]。有研究表明,DDR1 通过参与调控动脉粥样硬化的炎症反应,促进血管平滑肌增殖与迁移,影响动脉粥样硬化斑块的稳定性,从而在动脉粥样硬化的发病机制中发挥作用。

3.2 DDR1 在多种肿瘤疾病发生发展中的作用

肺癌是发病率和死亡率居首位的癌种,严重威胁着人类的健康与生命。肺癌主要分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),其中 NSCLC 约占所有肺癌的 85%,晚期 NSCLC 患者 5 年生存率低于 5%^[31]。研究表明,DDR1 在 NSCLC 组织中表达异常升高,Ford 等^[32]分析了 169 例 NSCLC 患者癌细胞组织中 DDR1 表达情况,DDR1 表达与死亡率呈正相关,DDR1 不仅在肺癌组织中表达升高,其磷酸化水平也明显升高。在肺癌细胞系中诱导 DDR1 高表达,可导致细胞迁移力、侵袭力以及胶原的相互作用力增强并且可以激活基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9),进而提高肿瘤细胞的转移能力。

乳腺癌是全球女性发病率最高恶性肿瘤,Castro 等^[33]发现在三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系中,天然 IV 型胶原激活 DDR1 诱导癌细胞中 CD9 的表达增加,进而导致癌细胞发生迁移,还通过 DDR1 和 Src 依赖的途径诱导 MMP-2 和 MMP-9 分泌和侵袭,同时增加 MMP-2 和 MMP-9 细胞表达水平,DDR1 激活对乳腺癌细胞的侵袭能力和代谢活动具有重要作用^[34]。Sun 等^[35]研究发现 DDR1 胞外结构域可以增强 ECM 中胶原蛋白的结合,使胶原纤维排列更加紧密,妨碍了免疫细胞对肿瘤的浸润。敲除 DDR1 有利于肿瘤内 T 细胞的浸润,并能抑制肿瘤的生长。

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,Jin 等^[36]发现 DDR1 的表达与胃癌腹膜转移形成有密切关系,腹膜转移是胃癌复发的一种独特模式,与血源性或淋巴转移相比,腹膜转移的预后较差,可以作为预测腹膜复发的生物标志物^[37]。同时,癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)能够增强胃癌腹膜成瘤的潜能。免疫组化实验表明,CAFs 能够上调 DDR1 的表达。使用 CRISPR/Cas9 获得 DDR1 基因敲除细胞系,这种方法能够抑制 CAFs 的促肿瘤作用,使用 DDR1 抑制剂也可发挥相同的作用。

肝癌是全球致死率最高的三种癌症之一,DDR1 在肝癌细胞系中过量表达,目前已知持续的 DDR1 激活可以调节 MMP,进而影响其降解细胞外基质成分的能力。Lee 等^[38]的研究结果表明 MMP-2 和 MMP-9 的上调是肝癌细胞转移和侵袭的必要条件,值得注意的是补体 C1q 诱导 DDR1 的激活和上调,促进 HepG2 细胞的迁移和

侵袭, 诱导 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路的激活, 增加 MMP-2 和 MMP-9 的表达. Park 等^[39]发现高表达的 DDR1a 和 DDR1b 也可以导致 MMP-2 和 MMP-9 的表达增加, 增强肝癌细胞的侵袭性和迁移性. 此外, DDR1 还与甲状腺癌^[40]、卵巢癌^[41]、结肠癌^[42]、膀胱癌^[43]、肾癌^[44]、黑色素瘤^[45]、脑肿瘤^[46]等恶性肿瘤疾病有密切的关系, 有望成为肿瘤治疗的新靶点.

3.3 DDR1 在纤维化疾病发生发展中的作用

DDR1 与血管纤维化、肺纤维化和肾纤维化病变密切相关, 例如: 在肾脏损伤部位 DDR1 的表达异常升高^[47]. Guerrot 等^[26]在单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UO)和炎症更为突出的抗肾小球基底膜肾小球肾炎模型中发现, 抑制 DDR1 表达可减少炎症细胞迁移, 阻碍纤维化形成^[48].

4 DDR1 抑制剂及其治疗意义

由于 DDR1 在癌症、炎症和纤维化等疾病的发生和发展中发挥重要作用, 有望成为新药研发的重要靶点, 目前已有多种 DDR1 抑制剂报道, 并在多种疾病中表现出一定的治疗潜力.

4.1 DDR1 抑制剂概况

DDR1 抑制剂根据作用部位可分为两类: 第一类抑制剂主要是作用于胞外 DS-like 区域的单克隆抗体, 包括 Fab 3E3^[6]、48B3^[46]和 H-126^[33]等, 该类抑制剂通过阻止胶原蛋白与 DDR1 结合进而阻碍 DDR1 的磷酸化进程; 第二类抑制剂作用于胞内 KD, 影响下游信号通路^[27]. DDR1 抑制剂常根据选择性进行分类, 可分为多靶点抑制剂和选择性抑制剂. 下面, 我们将从药物化学的角度介绍现有抑制剂的发现、构效关系研究和生物活性评价.

4.2 多靶点抑制剂

DDRs 是 RTKs 超家族的成员之一, 因激酶 ATP 结合区的结构高度同源性, 许多多靶点激酶抑制剂往往具有一定的 DDRs 抑制活性. 研究发现, DDR1 与 Bcr-Abl 激酶区的同源性高达 61%, 导致多数 Bcr-Abl 抑制剂也对 DDR1 表现出一定的效力^[49]. 多靶点抑制剂尼洛替尼(Nilotinib, **1**)、伊马替尼(Imatinib, **2**)和达沙替尼(Dasatinib, **3**)均可抑制由胶原诱导 DDR1 自身磷酸化, IC₅₀ 值分别为 43、337 和 0.5 nmol/L^[49](图 3), 此外巴非

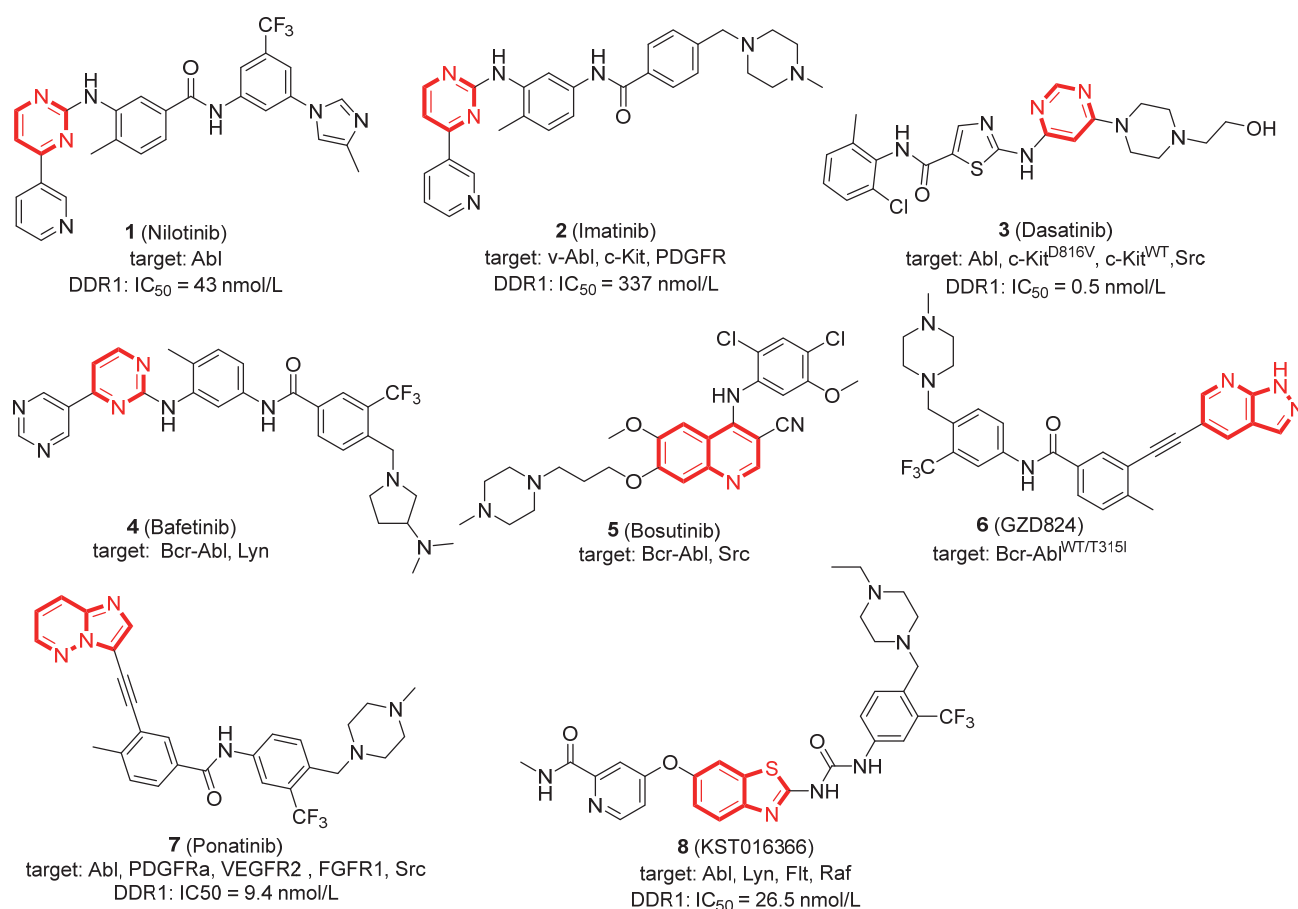


图 3 DDR1 和 Abl 多靶点抑制剂结构
Figure 3 Structures of DDR1 and Abl multi-target inhibitors

替尼(Bafetinib, **4**)^[50]、伯舒替尼(Bosutinib, **5**)^[51]、GZD824 (**6**)^[52]和普纳替尼(Ponatinib, **7**)^[53]等已上市的 Bcr-Abl 抑制剂对 DDR1 也有很强的抑制活性(图 3)。Keum 等^[54]设计合成了苯并噻唑类化合物 KST016366 (**8**), 针对 50 种致癌激酶进行抑制活性评价发现, 化合物 **8** 可以有效抑制 23 种激酶, 其中对 DDR1 的 IC_{50} 值为 26.5 nmol/L。DDR1 的 KD 主要由 N 端的 N-lope 和 C 端的 C-lope 构成, 其中 N-lope 由 5 个连续的 β -转角和 1 个明显的 α -螺旋(α C-helix)构成, 而 C-lope 存在大量 α -螺旋结构, 位于 N-lope 和 C-lope 之间的结构主要有铰链区(Hinge region)、催化环(Catalytic loop)和活化环(Activation loop)。DDR1 具有高度保守的 DFG 和 HRD 基序, 分别位于催化环和活化环, DFG 基序可产生 DFG-in 与 DFG-out 两种构象, 而 HRD 基序为蛋白质底物提供结合平面^[55]。以上多靶点抑制剂作用于 KD, 通过占据 ATP 结合口袋抑制磷酸化过程, 均为 ATP 竞争性抑制剂, 根据作用模式, 分为两种类型^[55]: (1) I 型激酶抑制剂, 模拟 ATP 腺嘌呤部分, 将 KD 锁定在活性构象(DFG-in), 代表药物如: 达沙替尼; (2) II 型激酶抑制剂, 可通过 ATP 结合位点和附近的变构位点, 将 KD 锁定在非活性构象(DFG-out), 代表药物如: 伊马替尼(图 4)。

除了以上 Bcr-Abl 抑制剂, 一些激酶抑制剂对 DDR1 也有较强的抑制活性(图 5)。B-Raf/VEGFR 双靶抑制剂索拉非尼(Sorafenib, **9**)^[56]、c-Met/VEGFR-2 双靶抑制剂 Foretinib (GSK1363089, **10**)^[56]、p38 MAPK 抑制剂

达马莫德(Doramapimod, **11**)^[56]、VEGFR 抑制剂培唑帕尼(Pazopanib, **12**)^[57]均对 DDR1 具有较强的亲和力, 其结合常数(K_d)值分别为 1.5、0.2、1.9、57 nmol/L。Sun 等^[58]发现噻吩并吡啶类多靶点抑制剂 LCB 03-0110 (**13**)对 DDR1 有较强的抑制活性, IC_{50} 值为 164 nmol/L。研究结果表明, 该化合物能够抑制 HEK293 细胞中的 DDR1b 的自身磷酸化, 并且对脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的细胞迁移和炎症因子的合成存在剂量依赖型的抑制作用。该化合物同时抑制巨噬细胞和成纤维细胞的激活, 可以减少皮肤创伤愈合模型中的纤维炎症和瘢痕形成。Dou 等在研发新型 JNK3 抑制剂的过程中偶然发现化合物 J46 (**14**)^[59]表现出一定程度的 DDR1 抑制活性, IC_{50} 值为 0.16 μ mol/L。这些非选择性 DDR1 抑制剂的发现为研究人员设计选择性抑制剂提供了改造思路。

4.3 选择性抑制剂

4.3.1 基于传统药物化学研究方法开发的 DDR1 抑制剂

传统的药物化学研究方法主要涉及发现、修饰和优化先导化合物, 通常采用骨架跃迁、生物电子等排和高通量筛选(high throughput screening, HTS)等药物化学方法研究化合物的构效关系(structure and activity relationship, SAR), 目的是通过药物分子设计或对先导化合物的化学修饰获得新化学实体创制新药。

Gray 等^[60]以 Bcr-Abl 抑制剂结构与药效团片段进行拼合获得了 II 型激酶抑制剂化合物库, 又通过激酶活性

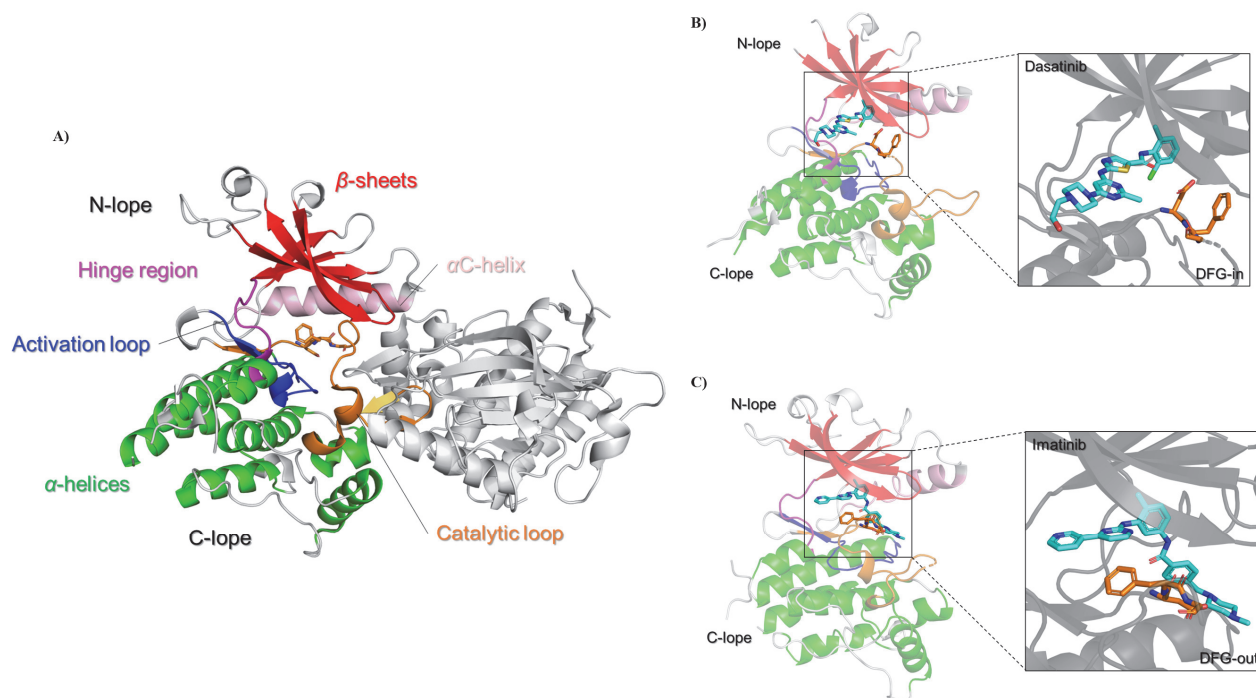


图 4 (A) DDR1 激酶结构域; (B) 达沙替尼与 DDR1 结合的结构示意图; (C) 伊马替尼与 DDR1 结合的结构示意图
Figure 4 (A) Kinase domain of DDR1; (B) structures of dasatinib bound to DDR1; (C) structures of imatinib bound to DDR1

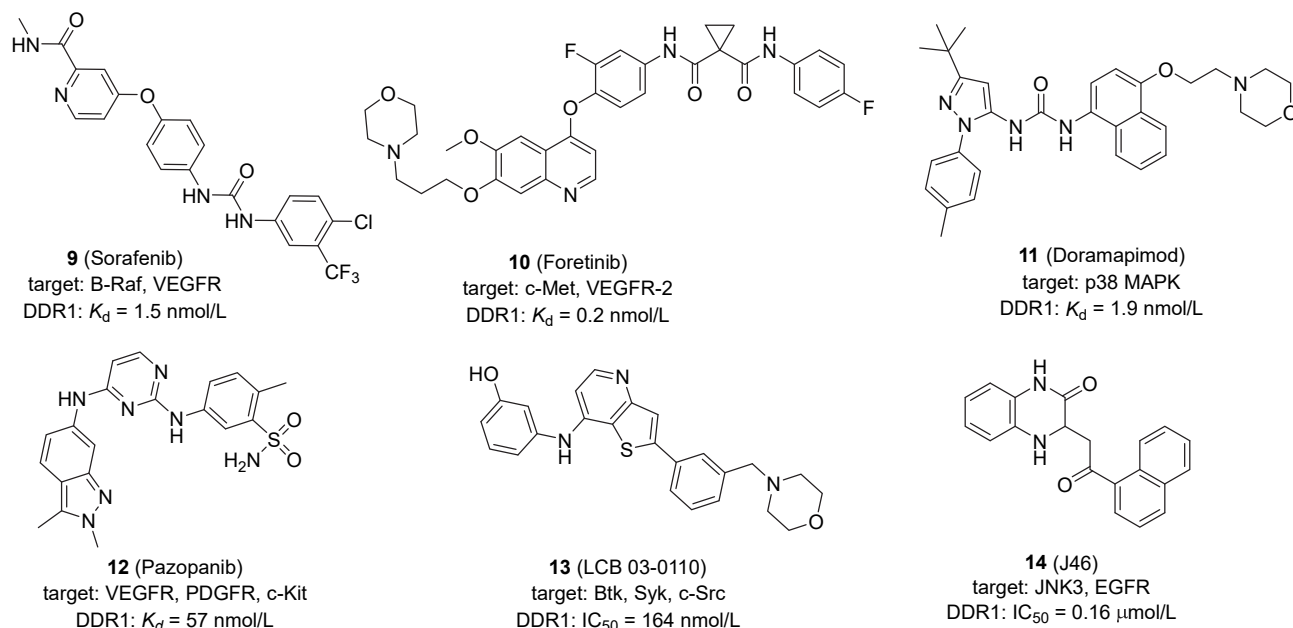


图5 DDR1 和其它多靶点抑制剂结构
Figure 5 Structures of DDR1 and other multi-target inhibitors

筛选获得了选择性的 DDR1 抑制剂 DDR1-IN-1 (**15**) (图 6)。化合物 **15** 能够与 DDR1 激酶的 DFG-out 构象结合, 并在纳摩尔浓度下抑制细胞中的 DDR1 自身磷酸化, IC_{50} 值为 105 nmol/L。同时化合物 **15** 表现出较好的 DDR1 选择性。化合物 **15** 与 DDR1 激酶共晶 X 射线结果表明, 该化合物属于典型的 II 型激酶抑制剂结合模式, 吡啶酮片段在铰链区与 Met704 形成关键氢键, 三氟甲基很好地嵌入到与 ATP 结合位点直接相邻的疏水口袋中, 酰胺部分与 Glu672 和 Asp784 分别形成两个氢键^[61]。PI3K/mTOR 双重抑制剂 GSK2126458 可明显增强化合物 **15** 对结肠癌细胞的抗增殖能力, 而化合物 **15** 单独使用时不能抑制癌细胞增殖^[60]。

Jeffries 等^[62]采用选择性 DDR1/2 抑制剂化合物 **16** 作为先导化合物, 其对 DDR1 和 DDR2 的 IC_{50} 分别为 12.4 和 18.6 nmol/L。尽管化合物 **16** 具有较高的靶点亲和力, 但它表现出较差的药物代谢性质以及较强的细胞毒性。研究人员通过更改关键侧链取代基 $R^1 \sim R^3$, 保留关键连接链亚胺基, 成功发现了芳基三氟甲基醚类化合物 **17**, 对 DDR1 和 DDR2 的 IC_{50} 值为 4.67 和 7.39 nmol/L, 同时化合物 **17** 具有较低细胞毒性和对 DDR1/2 较高的选择性, 在啮齿动物体内表现出可以接受的药代动力学性质。Xiong 等^[63]采用计算机辅助药物设计和生物电子等排等药物化学方法设计合成了化合物 **18** (图 7), 对 DDR1 和 DDR2 都有较强的抑制活性, 其 IC_{50} 值分别是 2.0 和 8.2 nmol/L, 较先导化合物显著降低了对 FGFR、PDGFR 和 KDR 的脱靶抑制活性, 其在动物模型中可减轻博来霉素(Bleomycin)诱导的肺损伤、炎症和肺纤维化。

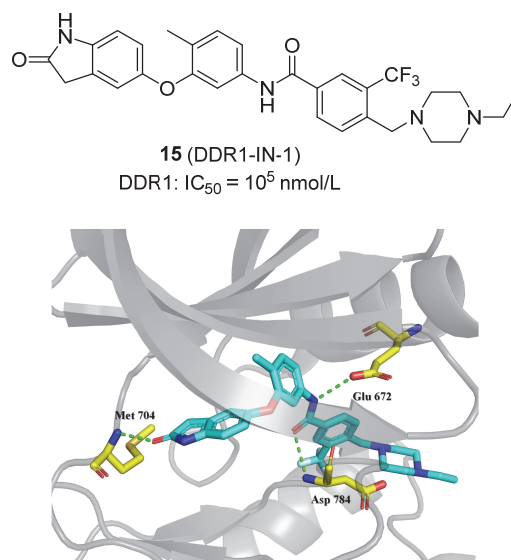


图6 化合物 **15** 结构以及与 DDR1 晶体复合物结构
Figure 6 Structure of compound **15** and crystalline complex with DDR1

化合物 **18** 具有较低的毒副作用、良好的药代动力学性质及口服生物利用度。

Ding 等^[64]从 2013 年至 2020 年报道了一系列 DDR1 选择性抑制剂, 最初通过筛选 Bcr-Abl 和其它受体酪氨酸激酶抑制剂, 发现了 3-(2-(吡啶[1,5-*a*]嘧啶-6-基)乙炔基)苯甲酰胺类先导化合物 **19**, 其有效抑制了 DDR1 的激酶活性, IC_{50} 值为 39.6 nmol/L, 但是化合物 **19** 对 c-Kit 激酶也有较强的抑制作用。为了提高其对 DDR1 抑制活性和选择性, 以化合物 **19** 为先导化合物, 进行结构优化

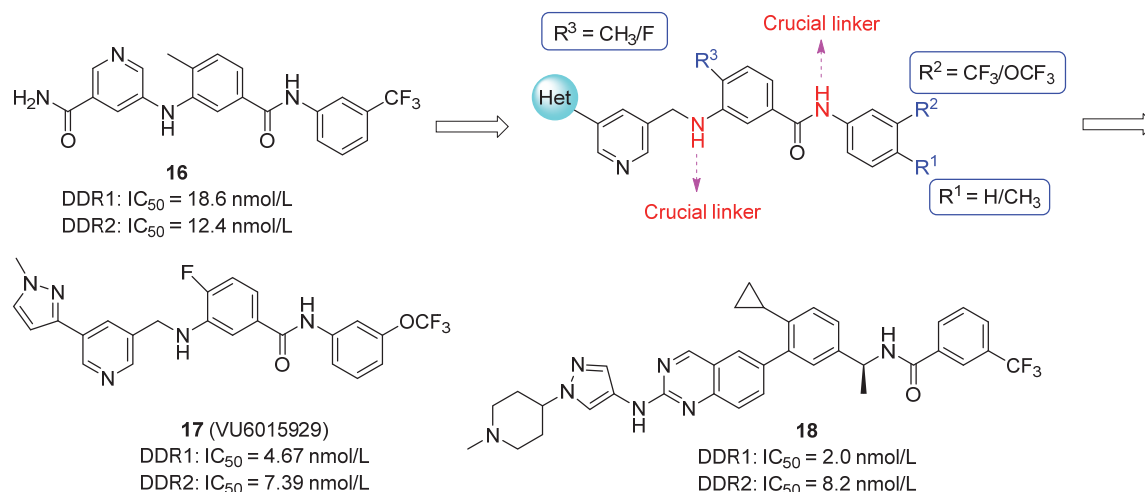


图7 DDR1/2 双靶点抑制剂结构

Figure 7 Structure of a DDR1/2 multi-target inhibitors

后发现化合物 **20** 和 **21** (**7rh**) 显示出对 DDR1 的选择性。化合物 **21** 能够与 DDR1 的 ATP 结合位点相互作用, K_d 值为 0.6 nmol/L 。通过筛选 456 种激酶抑制活性, 发现化合物 **21** 对除 DDR1 以外的 455 种激酶的效力显著降低, 显示出对 DDR1 的高选择性。初步药代动力学研究表明, 化合物 **20** 和 **21** 口服生物利用度分别为 67.4% 和 56.2%, 具有良好的药代动力学性质。以化合物 **21** 为先导化合物, 将炔基连接链用苯基替换得到化合物 **22**, 虽然化合物 **22** 对 DDR1 和 DDR2 的抑制活性有所下降, 但是对 Bcr-Abl 和 c-Kit 的选择性明显提升。化合物 **19** 与 DDR1 的对接结果表明, 该化合物不能很好地占据 ATP 结合袋中, 无法与 DDR1 中的 Met704 形成必要的氢键, 这可能是抑制力下降的原因。通过骨架跃迁策略对较链区片段进行改造, 以咪唑[1,2-*a*]吡嗪母核替换吡唑[1,5-*a*]嘧啶, 发现了化合物 **23**, 恢复了与 Met704 残基的关键氢键, 对 DDR1 表现出优异的抑制活性($IC_{50} = 9.6 \text{ nmol/L}$), 同时对 DDR2 也有较强的抑制作用。化合物 **23** 与 DDR1 晶体复合物表明, 化合物 **23** 以经典的 II 型结合模式与 DDR1 结合, 其咪唑并[1,2-*a*]吡嗪部分与 DDR1 的 Met704 残基形成氢键相互作用。苯基连接体与残基 Phe785 存在 $\pi-\pi$ 相互作用, 这有助于提高其对 Bcr-Abl 和 c-Kit 的选择性, 酰胺部分分别与 DDR1 的 Glu672 和 Asp784 残基形成两个氢键, 而甲基哌嗪侧链则延伸到蛋白溶剂区。去除化合物 **23** 中的甲基哌嗪侧链得到的化合物 **24** 表现出与化合物 **23** 相当的 DDR1 抑制作用, 但对 DDR2、Bcr-Abl 和 c-Kit 的选择性显著提高。研究结果还证实, 移除化合物中的三氟甲基后会丧失其对 DDR1 的抑制活性, 三氟甲基对维持化合物的 DDR1 抑制活性和提高激酶的选择性至关重要。针对化合物 **24** 进行结构优化得到了 DDR1 抑制活性和选择性更佳的化合物 **25** (**8v**) (图 8)。化合物 **25** 在 468 种激酶抑

制活性筛选中表现出对 DDR1 的较高选择性。该化合物剂量依赖性地抑制了 H1299 NSCLC 细胞的集落形成、迁移和侵袭, 但是化合物 **25** 的药代动力学性质需要进一步优化^[65]。

2016 年 Ding 等^[66]以化合物 **15** 和 **21** 为先导化合物, 运用开环和成环策略发现了结构新颖的四氢异喹啉-7-甲酰胺类 DDR 抑制剂, 化合物 **26** 表现出中等的 DDR1 抑制活性($IC_{50} = 309 \text{ nmol/L}$)而对 Abl 的抑制活性显著降低($IC_{50} > 10.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$) (图 9)。在 DDR1 与化合物 **26** 结合的晶体复合物中, 化合物 **26** 的酰胺部分与残基 Asp784 和 Glu672 存在两个氢键相互作用, 并且嘧啶部分与残基 Met704 存在一个氢键作用力(图 10)。继续优化化合物 **26** 得到化合物 **27** (**6j**), 其与 DDR1 紧密结合, K_d 值为 4.7 nmol/L , IC_{50} 值为 9.4 nmol/L , 通过对 468 种激酶(包括 403 种非突变激酶)在 $1.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 下进行激酶选择性谱分析研究, 结果表明, 化合物 **27** 表现出良好的靶向选择性。在原代人肺成纤维细胞中呈浓度依赖性抑制 DDR1 介导的信号传导, 并在博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中表现出良好的药代动力学特性和口服给药治疗效果。2017 年研究人员在四氢异喹啉-7-甲酰胺类化合物 **27** 的研究基础上, 继续优化得到了化合物 **28**, 其对 DDR1 的 IC_{50} 值为 24.3 nmol/L , 且具有良好的选择性。为了探究氢键在抑制 DDR1 活性中的作用, 设计并合成了酰胺骨架跃迁的化合物 **29**, 化合物 **28** 和 **29** 均与 DDR1 中 Met704、Asp784 和 Glu672 残基分别形成三个氢键, 区别在于化合物 **29** 反向酰胺连接时迫使疏水性三氟甲基苯基适度旋转离开 C-螺旋, 导致酰胺部分与 Asp784 残基之间的距离变长, 由原来化合物 **28** 的 0.18 nm 变为 0.25 nm , 从而使化合物对 DDR1 抑制活性减弱。因此, 以化合物 **28** 开展进一步优化, 通过扩环策略得到具有 1-甲基高哌嗪乙基取代基的化合物 **30** (**7ae**), 其与

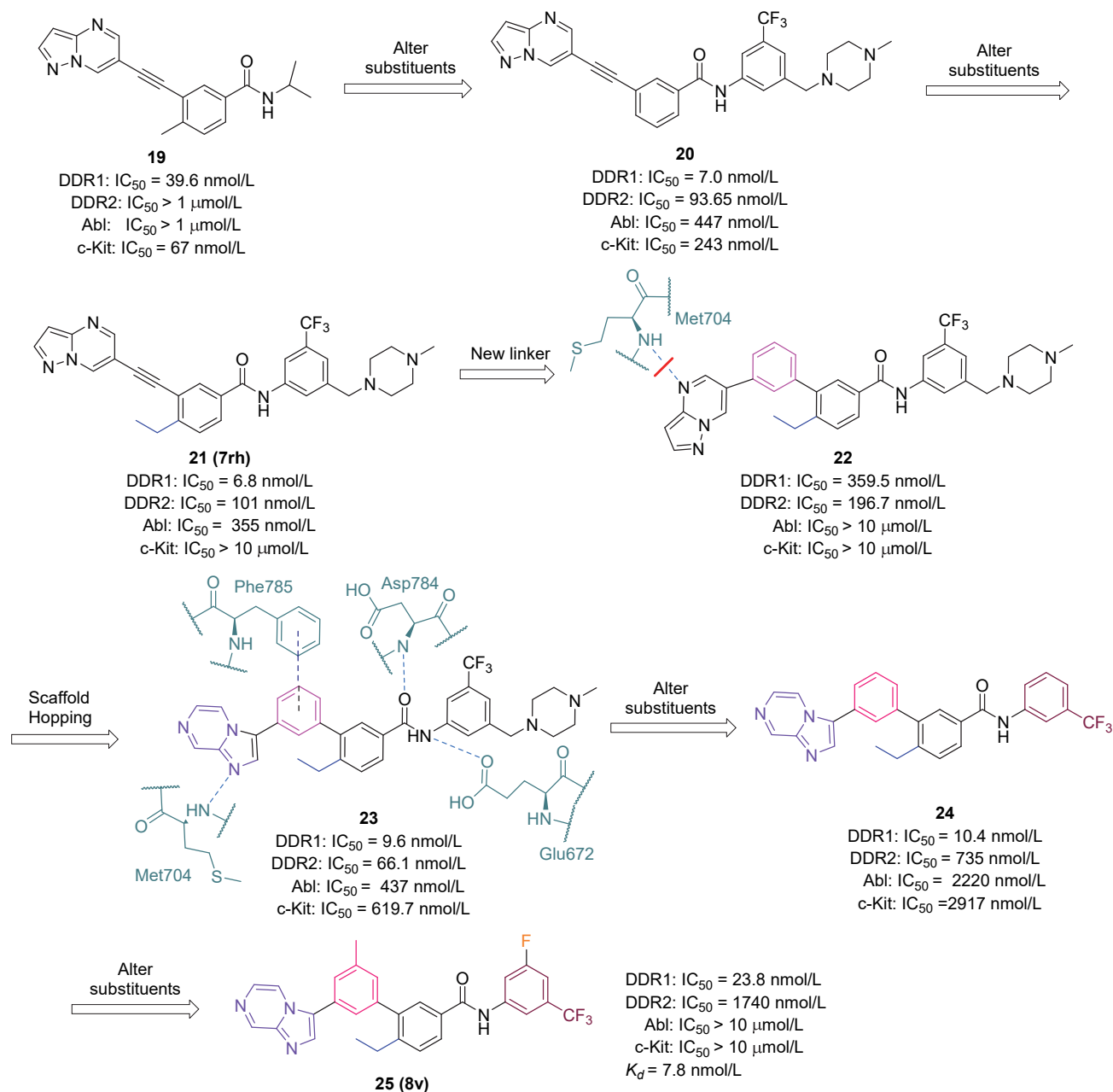


图8 化合物 19-25 结构改造过程以及与 DDR1 结合相互作用的示意图

Figure 8 Schematic representation of the structural modification process of compound 19-25 and their binding interaction with DDR1

DDR1 紧密结合, K_d 值为 2.2 nmol/L , IC_{50} 值为 6.6 nmol/L 。化合物 30 表现出良好的靶向特异性, 并以剂量依赖性方式抑制 LPS 诱导的 IL-6 和 TNF- α 的释放。它还抑制 LPS 诱导的支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中总细胞数和总蛋白浓度的增加。化合物 30 在大鼠体内表现出理想的药代动力学性质, 并在 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤模型中显示出良好的抗炎作用^[67]。由于化合物 27 对 TrkA、TrkB 和 TrkC 有一定的脱靶效应, 对应 IC_{50} 值分别为 68.4、36.8 和 30.2 nmol/L, 而对 TRK 的抑制可能引起潜在神经毒性。为了提高靶向特异性, 研究者采用开环成环策略设计, 并合

成了一系列 2-氨基-2,3-二氢-1*H*-茚-5-甲酰胺类化合物, 其中化合物 31 能有效抑制 DDR1 活性, 在 DDR1 与化合物 31 结合的晶体复合物中, 化合物 31 的酰胺部分与残基 Asp784 和 Glu672 形成两个氢键, 并且嘧啶部分与残基 Met704 存在氢键相互作用(图 10)。化合物 31 对 TRK 的抑制效力明显下降, 对 TrkA、TrkB 和 TrkC 的 IC_{50} 值均大于 1000 nmol/L。同时, 研究人员还发现对化合物 31 的氨基嘧啶进行结构改造能得到一类高选择性的 DDR1 抑制剂, 代表性化合物 32 对 DDR2 及 TRKs 均表现出较高的选择性。该化合物能有效抑制胶原诱导的 DDR1 信号传导和上皮间充质转化, 且剂量依赖性地

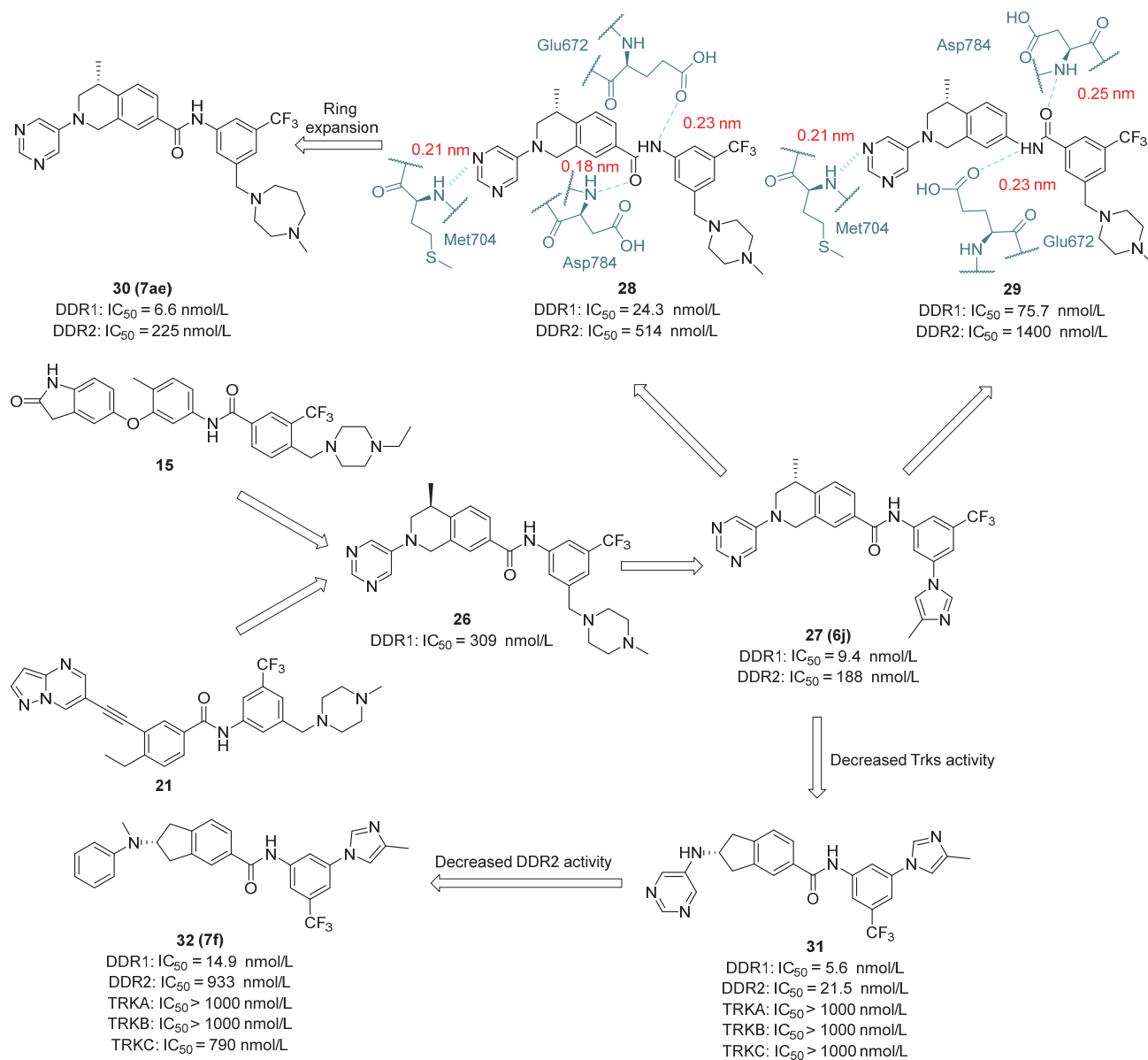


图9 化合物26~32结构改造过程以及与DDR1结合相互作用的示意图

Figure 9 Schematic representation of the structural modification process of compound 26~32 and their binding interaction with DDR1

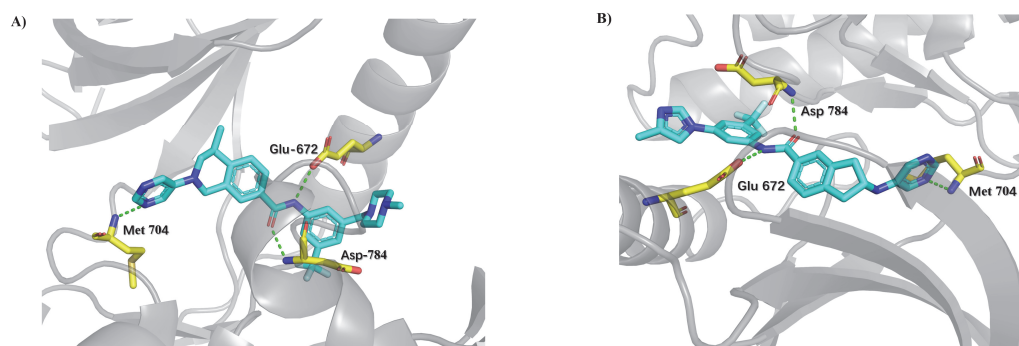


图10 (A)化合物26与DDR1晶体复合物结构;(B)化合物31与DDR1晶体复合物结构

Figure 10 (A) Crystalline complex structure of compound 26 with DDR1; (B) Crystalline complex structure of compound 31 with DDR1

落的形成, 在胰腺癌原位小鼠模型中显示出良好的体内 治疗效果^[68].

Ding 等^[69]以化合物 **21** 为先导化合物, 通过合理的结构改造, 发现了化合物 **33** 是有效的 DDR1/2 双重抑制剂, 但化合物 **33** 也表现出对 Abl1 较强的抑制活性. 为了提高抑制剂的选择性, 进行了进一步的结构优化. 采用异丙基替换掉苯环侧链的乙基得到化合物 **5n** (**34**), 在 DDR1 与化合物 **34** 结合的晶体复合物中, 咪唑并[1,2-*a*]吡嗪部分在铰链区与 Met704 形成基本氢键, 酰胺键与 Glu672 和 Asp784 之间还分别形成了两个额外的氢键, 而异丙基正好嵌入由残基 Val624、Ala653、Lys655 和 Met699 形成的疏水囊中(图 11). 化合物 **33** 和 **34** 的 K_d 值分别为 7.9 和 8.0 nmol/L, IC_{50} 值分别为 9.4 和 20.4 nmol/L. 在体外化合物 **34** 可以剂量依赖性地抑制 LPS 诱导的 IL-6 释放, 并在 LPS 诱导的急性肺损伤小鼠模型中显示出良好的体内抗炎作用.

4.3.2 基于现代药物化学研究方法开发的 DDR1 抑制剂

随着化学生物学、结构生物学和计算机科学等学科的高速发展, 现代药物化学研究方法引入了计算机辅助药物设计(computer aided drug design, CADD)、人工智能药物设计(artificial intelligence drug design, AIDD)和虚拟高通量筛选(visual high throughput screening, VHTS)等多学科交叉的新兴技术, 并在合理药物设计方面大展宏图.

Richter 等^[70]基于 DNA 编码化合物库筛选技术发现了一系列选择性 DDR1 抑制剂(图 12). 化合物 **35** 对

DDR1 的 IC_{50} 值为 1.4 $\mu\text{mol/L}$ 而对 DDR2 的 IC_{50} 值大于 167 $\mu\text{mol/L}$, 对 DDR1 具有一定的选择性, 以化合物 **35** 作为先导化合物通过进一步修饰得到化合物 **36** 提高了对 DDR1 的亲合力, 对 DDR1 和 DDR2 的 IC_{50} 值分别达到了 0.016 和 6.3 $\mu\text{mol/L}$. 由于化合物 **36** 代谢性质较差, 通过更换母核继续优化结构得到了最优化化合物 **37**, 相比于化合物 **35** 不仅提高了对 DDR1 的亲合性和选择性并且改善了化合物的代谢稳定性, 小鼠和人肝微粒体清除率降低至 10 $\mu\text{L/min/mg}$. 此外, 化合物 **37** 在 Alport 综合征的小鼠模型中可以保护肾功能并减轻肾组织损伤.

Dong 等^[71]基于 ATP 结合区的高度同源性, 使用 Discovery Studio 软件筛选了 100 个酪氨酸激酶抑制剂的核心支架, 以占据 DDR1 ATP 结合区的腺嘌呤部分, 最终筛选到最优的核心支架, 并参考化合物 **15** 找到了优势片段, 设计并合成了一系列 4-氨基-1*H*-吡唑并[3, 4-*d*]嘧啶衍生物, 其中化合物 **38**(图 13)有效抑制 DDR1 激酶活性, 其 IC_{50} 值为 44 nmol/L 并在 DDR1 过表达细胞系 HCT-116 和 MDA-MB-231 中, IC_{50} 值分别为 4.00 和 3.36 $\mu\text{mol/L}$, 能有效抑制细胞增殖. 分子对接研究表明, 化合物 **38** 很好地占据 DDR1 的 ATP 结合口袋, 并与 DDR1 的 KD 保持关键的氢键, 1*H*-吡唑[3, 4-*d*]嘧啶部分的氮原子和氨基氢原子分别与位于铰链结合区 Met704 氨基氢原子和羰基氧原子形成两个关键氢键. 此外, 1*H*-吡唑[3, 4-*d*]嘧啶与残基 Tyr703 的苯环产生 π - π

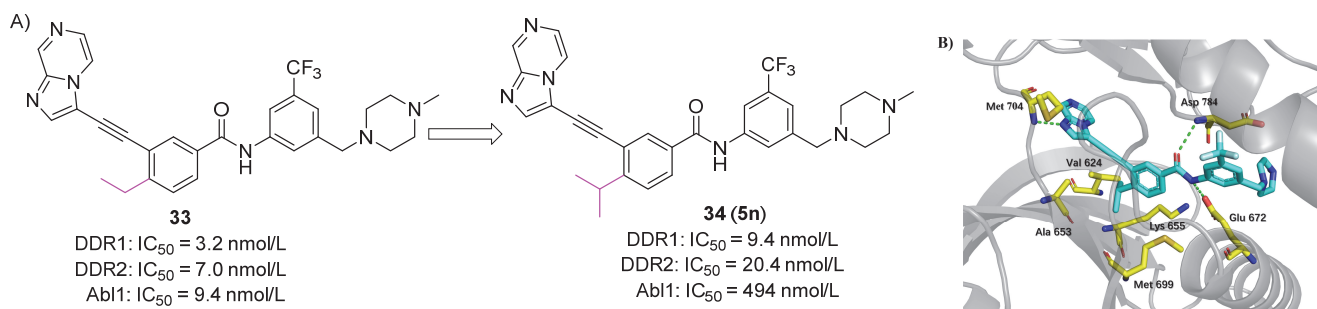


图 11 (A)化合物 **33** 和 **34** 的结构; (B)化合物 **34** 与 DDR1 晶体复合物结构

Figure 11 (A) Structure of the compound **33** and **34**; (B) Crystalline complex structure of compound **34** with DDR1

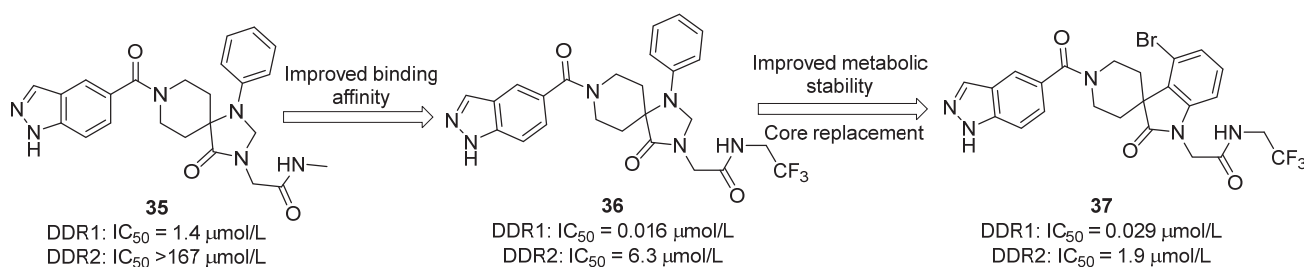


图 12 化合物 **35**~**37** 结构改造过程

Figure 12 Structure modification process of the compound **35**~**37**

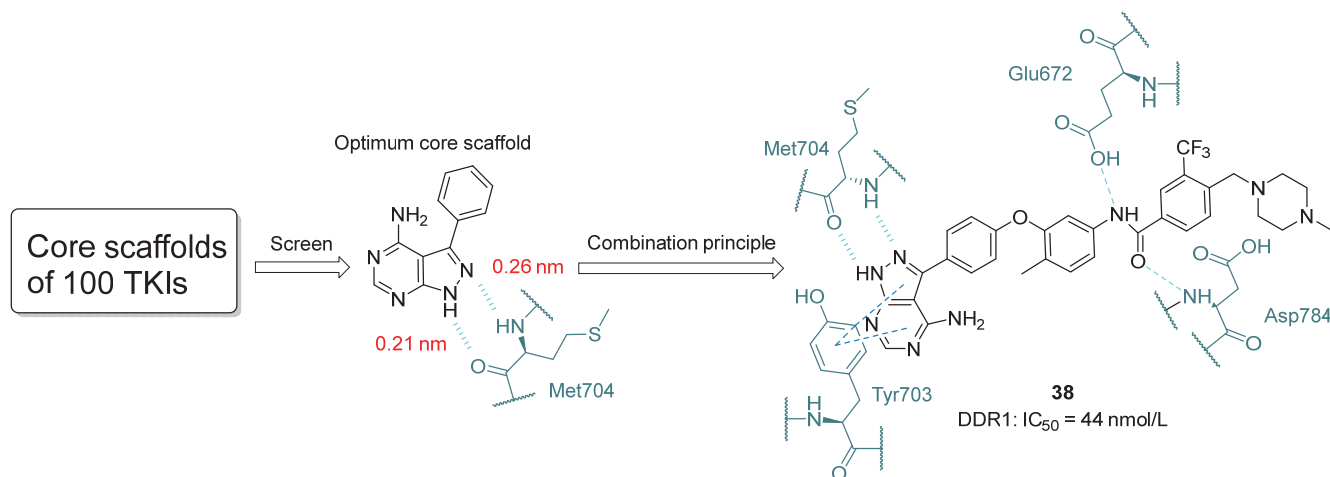


图 13 化合物 38 结构改造过程以及与 DDR1 结合相互作用的示意图

Figure 13 Schematic representation of the structural modification process of compound 38 and their binding interaction with DDR1

相互作用, 表明 1*H*-吡唑[3, 4-*d*]嘧啶部分在受体和配体的结合中起着重要作用。此外, α C-螺旋中的 Glu672 和 DFG 基序中的 Asp784 与连接链酰胺部分形成了两个氢键, 分别促进化合物 38 与 DDR1 的亲合力增加。

Alex 等^[72]运用深度学习模型 GENTRL 进行从头小分子药物设计, 在 46 天内完成了 DDR1 激酶的选择性抑制剂的设计、合成和生物活性测试, 并成功筛选到化合物 39(图 14), 对 DDR1 和 DDR2 的 IC_{50} 值分别为 10 和 234 nmol/L, 在人骨肉瘤细胞系中通过自身磷酸化测定的 DDR1 抑制活性, IC_{50} 值为 10.3 nmol/L, 并且可以抑制 MRC-5 肺成纤维细胞内诱导纤维化标志物 α -actin 和 CCN2 的活性以及 LX-2 肝星状细胞内胶原蛋白的表达。化合物 39 的微粒体稳定性和药代动力学性质良好, 可以作为先导化合物进一步研究。

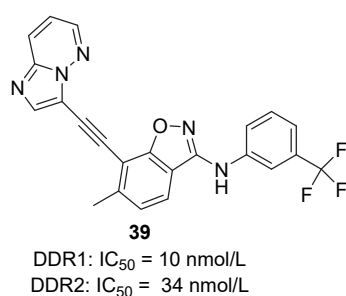


图 14 化合物 39 的结构

Figure 14 Structure of the compound 39

Tan 等^[73]对吡唑并[3, 4-*d*]嘧啶酮衍生物结构的 FGFR 抑制剂化合物进行基于深度学习的活性评价及虚拟筛选, 发现苗头化合物 40 对 DDR1 存在一定的脱靶效应。分析化合物 DC-1 分别与 FGFR 和 DDR1 的结合模式, 分子对接结果显示 DDR1 的结合口袋在苯并咪唑环片段处较空旷, 且嘧啶酮片段与铰链区存在关键结合

作用力。遂确定化合物的结构修饰方向, 分别为: (1) *N*-苯基上取代基的 SAR 分析; (2) 苯并咪唑环向结合口袋空腔的延伸。随后应用深度学习模型对结构修饰处进行了化合物片段库的虚拟筛选及靶标活性预测, 获得了 10 个预测活性最佳的全新化合物结构。最后采用传统药物化学研究方法进行 SAR 分析及靶标结合活性测试, 获得了高选择性、体内高效的 DDR1 小分子抑制剂化合物 41, 其 IC_{50} 值达到 10.6 nmol/L。化合物 41 与 DDR1 的晶体复合物表明吡唑并[3,4-*d*]嘧啶酮骨架与铰链区的 Met704 和 Asp702 残基形成关键氢键相互作用, 且苯并咪唑环上方的酰胺键连接链与变构区的 Glu672 和 Asp784 残基形成了两个额外的氢键(图 15)。体外实验中, 化合物 41 可有效抑制细胞中促炎细胞因子的表达以及 DDR1 的自身磷酸化, 而在体内试验中同样显示出良好的药效, 对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的结肠炎动物模型有显著的治疗和保护作用。

5 总结和展望

DDRs 属于 RTKs 超家族的成员之一, 其特殊性在于需要与胶原结合启动下游信号通路, 在调节人体多种细胞功能方面发挥着重要的作用。DDR1 的异常表达与炎症、癌症和纤维化等多种疾病的发生和发展密切相关, 目前已对 DDR1 介导的信号通路在生理和病理情况下进行了大量研究, 但 DDR1 激活和发挥作用的详细机制尚不明确, 继续深入探索下游信号通路和各种疾病发展的关系也是更好地开发高活性 DDR1 抑制剂的迫切需要。近年来研究人员致力于开发有效和选择性 DDR1 抑制剂, 在传统的药物设计方法的基础上, 正在努力尝试各种新的方法, 如: AIDD, 其优势在于在短时间内运用深度学习模型可以快速、准确地设计出可合成、靶向性高, 创新性强的化合物, 试图快速有效地发现效力更强

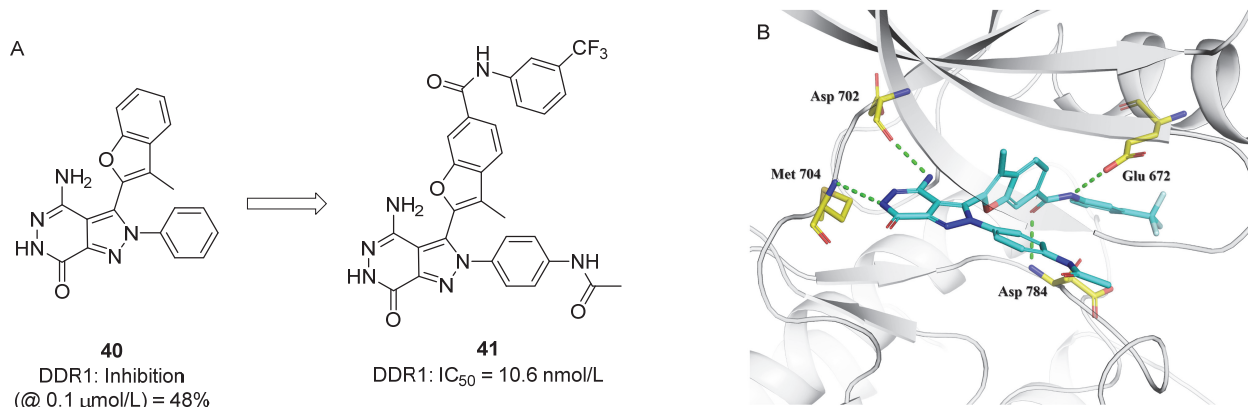


图 15 (A)化合物 40 和 41 的结构; (B)化合物 41 与 DDR1 虚拟对接相互作用示意图

Figure 15 (A) Structure of the compound 40 and compound 41; (B) Schematic representation of the virtual docking of compound 41 with DDR1

的 DDR1 抑制剂。结合结构生物学的信息, 目前报道的选择性 DDR1 抑制剂大多为与 DFG-out 构象结合的 II 型激酶抑制剂, 在分子设计中引入能够与 Glu672 和 Asp784 残基形成氢键并占据变构口袋的酰胺侧链对活性的提升具有重要作用。尽管目前已有大量的 DDR1 抑制剂报导, 但是仍未有以 DDR1 为主要靶点的药物获批上市, 仅有韩国 Avixgen 公司的 AVI-4015 和北京诺诚健华医药科技有限公司的 ICP-033 两种以 DDR1 为主要靶点的多靶点抑制剂处于临床 I 期研究中, 仍然没有高选择性 DDR1 抑制剂进入临床研究。多靶点激酶抑制剂可能引起高血压、蛋白尿、皮疹等, 开发高选择性的 DDR1 抑制剂(或者选择性抑制几个靶点)具有十分重要的意义。结合抑制剂与不同靶标的晶体复合物信息进行合理的药物设计是提升化合物选择性的方法之一。伴随着蛋白降解技术的不断发展, 通过蛋白水解靶向嵌合体 (Proteolysis targeting chimeras, PROTACs) 开发 DDR1 降解剂也可能是提升化合物选择性的研究策略之一。值得注意的是, 最近研究人员发现敲除 DDR1 可以促进肿瘤内 T 细胞的浸润, 并能抑制肿瘤的生长, 这使得 DDR1 有可能成为肿瘤免疫治疗的新靶点。DDR1 抑制剂与其他肿瘤免疫疗法的联合用药也成为一种极具潜力的肿瘤治疗新方法。

References

- [1] Elkamhawy, A.; Lu, Q.; Nada, H.; Woo, J.; Quan, G.; Lee, K. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1.
- [2] Borza, C. M.; Pozzi, A. *Matrix Biol.* **2014**, *34*, 185.
- [3] Shrivastava, A.; Radziejewski, C.; Campbell, E.; Kovac, L.; McGlynn, M.; Ryan, T. E.; Davis, S.; Goldfarb, M. P.; Glass, D. J.; Lemke, G.; Yancopoulos, G. D. *Mol. Cell.* **1997**, *1*, 25.
- [4] Agarwal, G.; Kovac, L.; Radziejewski, C.; Samuelsson, S. J. *Biochemistry* **2002**, *41*, 11091.
- [5] Matada, G. S. P.; Das, A.; Dhiwar, P. S.; Ghara, A. *Med. Chem. Res.* **2021**, *30*, 535.
- [6] Carafoli, F.; Mayer, M. C.; Shiraishi, K.; Pecheva, M. A.; Chan, L. Y.; Nan, R.; Leitinger, B.; Hohenester, E. *Structure* **2012**, *20*, 688.
- [7] Noordeen, N. A.; Carafoli, F.; Hohenester, E.; Horton, M. A.; Leitinger, B. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 22744.
- [8] Leitinger, B. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2011**, *27*, 265.
- [9] Carafoli, F.; Hohenester, E. *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **2013**, *1834*, 2187.
- [10] Alves, F.; Saupe, S.; Ledwon, M.; Schaub, F.; Hiddemann, W.; Vogel, W. *FASEB J.* **2001**, *15*, 1321.
- [11] Playford, M. P.; Butler, R. J.; Wang, X. C.; Katso, R. M.; Cooke, I. E.; Ganesan, T. S. *Genome Res.* **1996**, *6*, 620.
- [12] Leitinger, B. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 16761.
- [13] Leitinger, B.; Kwan, A. P. L. *Matrix Biol.* **2006**, *25*, 355.
- [14] Hou, G.; Vogel, W.; Bendeck, M. P. *J. Clin. Invest.* **2001**, *107*, 727.
- [15] Ongusaha, P. P.; Kim, J. il; Fang, L.; Wong, T. W.; Yancopoulos, G. D.; Aaronson, S. A.; Lee, S. W. *EMBO J.* **2003**, *22*, 1289.
- [16] Das, S.; Ongusaha, P. P.; Yang, Y. S.; Park, J. M.; Aaronson, S. A.; Lee, S. W. *Cancer Res.* **2006**, *66*, 8123.
- [17] Kim, H. G.; Hwang, S. Y.; Aaronson, S. A.; Mandinova, A.; Lee, S. W. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 17672.
- [18] Huang, Y.; Arora, P.; McCulloch, C. A.; Vogel, W. F. *J. Cell Sci.* **2009**, *122*, 1637.
- [19] Hidalgo-Carcedo, C.; Hooper, S.; Chaudhry, S. I.; Williamson, P.; Harrington, K.; Leitinger, B.; Sahai, E. *Nat. Cell Biol.* **2011**, *13*, 49.
- [20] Jönsson, M.; Andersson, T. J. *Cell Sci.* **2001**, *114*, 2043.
- [21] Hansen, C.; Greengard, P.; Nairn, A. C.; Andersson, T.; Vogel, W. F. *Exp. Cell Res.* **2006**, *312*, 4011.
- [22] Shintani, Y.; Fukumoto, Y.; Chaika, N.; Svoboda, R.; Wheelock, M. J.; Johnson, K. R. *J. Cell Biol.* **2008**, *180*, 1277.
- [23] Payne, L. S.; Huang, P. H. *J. Thorac. Oncol.* **2014**, *9*, 900.
- [24] Iwai, L. K.; Chang, F.; Huang, P. H. *Cell Adhes. Migr.* **2013**, *7*, 161.
- [25] Iwai, L. K.; Payne, L. S.; Luczynski, M. T.; Chang, F.; Xu, H.; Clinton, R. W.; Paul, A.; Esposito, E. A.; Gridley, S.; Leitinger, B.; Naegle, K. M.; Huang, P. H. *Biochem. J.* **2013**, *454*, 501.
- [26] Kerroch, M.; Guerrot, D.; Vandermeersch, S.; Placier, S.; Mesnard, L.; Jouanneau, C.; Rondeau, E.; Ronco, P.; Boffa, J. J.; Chatziantoniou, C.; Dussaule, J. C. *FASEB J.* **2012**, *26*, 4079.
- [27] Foehr, E. D.; Tatavos, A.; Tanabe, E.; Raffioni, S.; Goetz, S.; Dimarco, E.; De LUCA, M.; Bradshaw, R. A. *FASEB J.* **2000**, *14*, 973.
- [28] Gremmels, H.; Bevers, L. M.; Fledderus, J. O.; Braam, B.; Jan Van Zonneveld, A.; Verhaar, M. C.; Joles, J. A. *Eur. J. Pharmacol.* **2015**, *751*, 67.
- [29] Kamohara, H.; Yamashiro, S.; Galligan, C.; Yoshimura, T. *FASEB J.* **2001**, *15*, 2724.
- [30] Ferri, N.; Carragher, N. O.; Raines, E. W. *Am. J. Pathol.* **2004**, *164*, 1575.
- [31] Lu, X.; Yu, L.; Zhang, Z.; Ren, X.; Smail, J. B.; Ding, K. *Med. Res. Rev.* **2018**, *38*, 1550.
- [32] Ford, C. E.; Lau, S. K.; Zhu, C. Q.; Andersson, T.; Tsao, M. S.;

- Vogel, W. F. *Br. J. Cancer* **2007**, *96*, 808.
- [33] Castro-Sanchez, L.; Soto-Guzman, A.; Navarro-Tito, N.; Martinez-Orozco, R.; Salazar, E. P. *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 843.
- [34] Castro-Sanchez, L.; Soto-Guzman, A.; Guaderrama-Diaz, M.; Cortes-Reynosa, P.; Salazar, E. P. *Clin. Exp. Metastasis* **2011**, *28*, 463.
- [35] Sun, X.; Wu, B.; Chiang, H. C.; Deng, H.; Zhang, X.; Xiong, W.; Liu, J.; Rozeboom, A. M.; Harris, B. T.; Blommaert, E.; Gomez, A.; Garcia, R. E.; Zhou, Y.; Mitra, P.; Prevost, M.; Zhang, D.; Banik, D.; Isaacs, C.; Berry, D.; Lai, C.; Chaldeckas, K.; Latham, P. S.; Brantner, C. A.; Popratiloff, A.; Jin, V. X.; Zhang, N.; Hu, Y.; Pujana, M. A.; Curiel, T. J.; An, Z.; Li, R. *Nature* **2021**, *599*, 673.
- [36] Jin, H.; Ham, I. H.; Oh, H. J.; Bae, C. A.; Lee, D.; Kim, Y. B.; Son, S. Y.; Chwa, Y. J.; Han, S. U.; Brekken, R. A.; Hur, H. *Mol. Cancer Res.* **2018**, *16*, 1590.
- [37] Van Cutsem, E.; Sagaert, X.; Topal, B.; Haustermans, K.; Prenen, H. *Lancet* **2016**, *388*, 2654.
- [38] Lee, J. H.; Poudel, B.; Ki, H. H.; Nepali, S.; Lee, Y. M.; Shin, J. S.; Kim, D. K. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1.
- [39] Park, H. S.; Kim, K. R.; Lee, H. J.; Choi, H. N.; Kim, D. K.; Kim, B. T.; Moon, W. S. *Oncol. Rep.* **2007**, *18*, 1435.
- [40] Shimada, K.; Nakamura, M.; Ishida, E.; Higuchi, T.; Yamamoto, H.; Tsujikawa, K.; Konishi, N. *Cancer Sci.* **2008**, *99*, 39.
- [41] Deng, Y.; Zhao, F.; Hui, L.; Li, X.; Zhang, D.; Lin, W.; Chen, Z.; Ning, Y. *J. Ovarian Res.* **2017**, *10*, 1.
- [42] Jeitany, M.; Leroy, C.; Tosti, P.; Lafitte, M.; Le Guet, J.; Simon, V.; Bonenfant, D.; Robert, B.; Grillet, F.; Mollevi, C.; El Messaoudi, S.; Otandault, A.; Canterel - Thouennon, L.; Busson, M.; Thierry, A. R.; Martineau, P.; Pannequin, J.; Roche, S.; Sirvent, A. *EMBO Mol. Med.* **2018**, *10*, 1.
- [43] Kumari, N.; Saxena, S.; Agrawal, U. *J. Egypt. Natl. Cancer Inst.* **2015**, *27*, 51.
- [44] Krazinski, B. E.; Kiewisz, J.; Sliwinska-Jewsiewicka, A.; Kowalczyk, A. E.; Grzegorzolka, J.; Godlewski, J.; Kwiatkowski, P.; Dziegiel, P.; Kmiec, Z. *Cancer Genomics Proteomics* **2019**, *16*, 179.
- [45] Reger de Moura, C.; Battistella, M.; Sohail, A.; Caudron, A.; Feugeas, J. P.; Podgorniak, M. P.; Pages, C.; Mazouz Dorval, S.; Marco, O.; Menashi, S.; Fridman, R.; Lebbé, C.; Mourah, S.; Jouenne, F. *Pigm. Cell Melanoma Res.* **2019**, *32*, 697.
- [46] Ram, R.; Lorente, G.; Nikolich, K.; Urfer, R.; Foehr, E.; Nagaravapu, U. *J. Neurooncol.* **2006**, *76*, 239.
- [47] Prakoura, N.; Chatziantoniou, C. *Front. Med.* **2017**, *4*, 1.
- [48] Guerrot, D.; Kerroch, M.; Placier, S.; Vandermeersch, S.; Trivin, C.; Mael-Ainin, M.; Chatziantoniou, C.; Dussaule, J. C. *Am. J. Pathol.* **2011**, *179*, 83.
- [49] Kothiwale, S.; Borza, C. M.; Lowe, E. W.; Pozzi, A.; Meiler, J. *Drug Discovery Today* **2015**, *20*, 255.
- [50] Day, E.; Waters, B.; Spiegel, K.; Alnadaf, T.; Manley, P. W.; Buchdunger, E.; Walker, C.; Jarai, G. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *599*, 44.
- [51] Rix, U.; Remsing Rix, L. L.; Terker, A. S.; Fernbach, N. V.; Hantschel, O.; Planysky, M.; Breitwieser, F. P.; Herrmann, H.; Colinge, J.; Bennett, K. L.; Augustin, M.; Till, J. H.; Heinrich, M. C.; Valent, P.; Superti-Furga, G. *Leukemia* **2010**, *24*, 44.
- [52] Fowler, A. J.; Hebron, M.; Missner, A. A.; Wang, R.; Gao, X.; Kurd-Misto, B. T.; Liu, X.; Moussa, C. E. H. *Drugs R&D* **2019**, *19*, 149.
- [53] Ren, X.; Pan, X.; Zhang, Z.; Wang, D.; Lu, X.; Li, Y.; Wen, D.; Long, H.; Luo, J.; Feng, Y.; Zhuang, X.; Zhang, F.; Liu, J.; Leng, F.; Lang, X.; Bai, Y.; She, M.; Tu, Z.; Pan, J.; Ding, K. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 879.
- [54] Canning, P.; Tan, L.; Chu, K.; Lee, S. W.; Gray, N. S.; Bullock, A. N. *J. Mol. Biol.* **2014**, *426*, 2457.
- [55] El-Damasy, A. K.; Cho, N. C.; Nam, G.; Pae, A. N.; Keum, G. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 1587.
- [56] Li, Y.; Lu, X.; Ren, X.; Ding, K. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3287.
- [57] Davis, M. I.; Hunt, J. P.; Herrgard, S.; Cicceri, P.; Wodicka, L. M.; Pallares, G.; Hocker, M.; Treiber, D. K.; Zarrinkar, P. P. *Nat. Biotechnol.* **2011**, *29*, 1046.
- [58] Sun, X.; Phan, T. N.; Jung, S. H.; Kim, S. Y.; Cho, J. U.; Lee, H.; Woo, S. H.; Park, T. K.; Yang, B. S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, *340*, 510.
- [59] Dou, X.; Huang, H.; Jiang, L.; Zhu, G.; Jin, H.; Jiao, N.; Zhang, L.; Liu, Z.; Zhang, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *201*, 112445.
- [60] Kim, H. G.; Tan, L.; Weisberg, E. L.; Liu, F.; Canning, P.; Choi, H. G.; Ezell, S. A.; Wu, H.; Zhao, Z.; Wang, J.; Mandinova, A.; Griffin, J. D.; Bullock, A. N.; Liu, Q.; Lee, S. W.; Gray, N. S. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 2145.
- [61] Kim, H. G.; Tan, L.; Weisberg, E. L.; Liu, F.; Canning, P.; Choi, H. G.; Ezell, S.; Zhao, Z.; Wu, H.; Wang, J.; Mandinova, A.; Bullock, A. N.; Liu, Q.; Lee, S. W.; Gray, N. S. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 840.
- [62] Jeffries, D. E.; Borza, C. M.; Blobaum, A. L.; Pozzi, A.; Lindsley, C. W. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 29.
- [63] Wang, Q.; Tang, B.; Sun, D.; Dong, Y.; Ji, Y.; Shi, H.; Zhou, L.; Yang, Y.; Luo, M.; Tan, Q.; Chen, L.; Dong, Y.; Li, C.; Xie, R.; Zang, Y.; Shen, J.; Xiong, B.; Li, J.; Chen, D. *Acta Pharm. Sin. B* **2022**, *12*, 1943.
- [64] Gao, M.; Duan, L.; Luo, J.; Zhang, L.; Lu, X.; Zhang, Y.; Zhang, Z.; Tu, Z.; Xu, Y.; Ren, X.; Ding, K. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 3281.
- [65] Mo, C.; Zhang, Z.; Li, Y.; Huang, M.; Zou, J.; Luo, J.; Tu, Z. C.; Xu, Y.; Ren, X.; Ding, K.; Lu, X. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 379.
- [66] Wang, Z.; Bian, H.; Bartual, S. G.; Du, W.; Luo, J.; Zhao, H.; Zhang, S.; Mo, C.; Zhou, Y.; Xu, Y.; Tu, Z.; Ren, X.; Lu, X.; Brekken, R. A.; Yao, L.; Bullock, A. N.; Su, J.; Ding, K. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 5911.
- [67] Wang, Z.; Zhang, Y.; Bartual, S. G.; Luo, J.; Xu, T.; Du, W.; Xun, Q.; Tu, Z.; Brekken, R. A.; Ren, X.; Bullock, A. N.; Liang, G.; Lu, X.; Ding, K. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 327.
- [68] Zhu, D.; Huang, H.; Pinkas, D. M.; Luo, J.; Ganguly, D.; Fox, A. E.; Arner, E.; Xiang, Q.; Tu, Z. C.; Bullock, A. N.; Brekken, R. A.; Ding, K.; Lu, X. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 7431.
- [69] Wang, Z.; Zhang, Y.; Pinkas, D. M.; Fox, A. E.; Luo, J.; Huang, H.; Cui, S.; Xiang, Q.; Xu, T.; Xun, Q.; Zhu, D.; Tu, Z.; Ren, X.; Brekken, R. A.; Alex N. Bullock, A. N.; Liang, G.; Ding, K.; Lu, X. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 7977.
- [70] Richter, H.; Satz, A. L.; Bedoucha, M.; Buettelmann, B.; Petersen, A. C.; Harmeier, A.; Hermosilla, R.; Hochstrasser, R.; Burger, D.; Gsell, B.; Gasser, R.; Huber, S.; Hug, M. N.; Kocer, B.; Kuhn, B.; Ritter, M.; Rudolph, M. G.; Weibel, F.; Molina-David, J.; Kim, J. J.; Santos, J. V.; Stihle, M.; Georges, G. J.; Bonfil, R. D.; Fridman, R.; Uhles, S.; Moll, S.; Faul, C.; Fornoni, A.; Prunotto, M. *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 37.
- [71] Dong, R.; Zhou, X.; Wang, M.; Li, W.; Zhang, J. Y.; Zheng, X.; Tang, K. X.; Sun, L. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2021**, *29*, 115876.
- [72] Zhavoronkov, A.; Ivanenkov, Y. A.; Aliper, A.; Veselov, M. S.; Aladinskiy, V. A.; Aladinskaya, A. V.; Terentiev, V. A.; Polykovskiy, D. A.; Kuznetsov, M. D.; Asadulaev, A.; Volkov, Y.; Zholus, A.; Shayakhmetov, R.; Zhebrak, A.; Minaeva, L. I.; Zagribelnyy, B. A.; Lee, L. H.; Soll, R.; Madge, D.; Xing, L.; Guo, T.; Aspuru-Guzik, A. *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37*, 1038.
- [73] Tan, X.; Li, C.; Yang, R.; Zhao, S.; Li, F.; Li, X.; Chen, L.; Wan, X.; Liu, X.; Yang, T.; Tong, X.; Xu, T.; Cui, R.; Jiang, H.; Zhang, S.; Liu, H.; Zheng, M. *J. Med. Chem.* **2022**, *65*, 103.

(Li, L.)